

대한민국 특허청

KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE

별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.

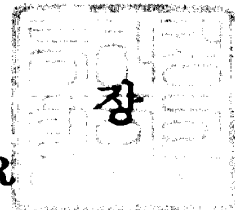
출원번호 : 특허출원 2001년 제 70978 호
Application Number PATENT-2001-0070978

출원년월일 : 2001년 11월 15일
Date of Application NOV 15, 2001

출원인 : 삼조셀텍 주식회사
Applicant(s) SAMJOCELLTECH LTD.

2002 년 02 월 15 일

특 허 청
COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2001.11.15
【발명의 명칭】	콩배아를 이용한 메주의 개선된 제조방법, 그 방법 에 의해 제조된 메주 및 상기 메주를 이용하여 제조 된 된장 및 간장
【발명의 영문명칭】	A MODIFIED METHOD FOR PREPARING KOJI, SAID KOJI, AND SOYBEAN PASTE OR SOYBEAN SAUCE MADE FROM THE KOJI
【출원인】	
【명칭】	삼조셀텍 주식회사
【출원인코드】	1-2000-038545-8
【대리인】	
【성명】	이현실
【대리인코드】	9-1999-000366-5
【포괄위임등록번호】	2000-046773-0
【대리인】	
【성명】	장성구
【대리인코드】	9-1998-000514-8
【포괄위임등록번호】	2000-046771-5
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김태현
【성명의 영문표기】	KIM, Tae Hyun
【주민등록번호】	720303-1702821
【우편번호】	330-836
【주소】	충청남도 천안시 성거읍 저리 53-2 삼일원앙아파트 101-707
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	박명규
【성명의 영문표기】	PARK, Myoung Gyu
【주민등록번호】	601102-1260415
【우편번호】	330-810

【주소】	충청남도 천안시 직산면 수월리 부영아파트 104-203		
【국적】	KR		
【발명자】			
【성명의 국문표기】	김은주		
【성명의 영문표기】	KIM, Eun Ju		
【주민등록번호】	720612-2038026		
【우편번호】	330-820		
【주소】	충청남도 천안시 입장면 도림리 341-1 한성아파트 110-502		
【국적】	KR		
【발명자】			
【성명의 국문표기】	윤기선		
【성명의 영문표기】	Y00N, Kee Sun		
【주민등록번호】	690510-1056228		
【우편번호】	442-821		
【주소】	경기도 수원시 팔달구 원천동 35번지 원천주공아파트 108-1109		
【국적】	KR		
【심사청구】	청구		
【취지】	특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다. 대리인 이현실 (인) 대리인 장성구 (인)		
【수수료】			
【기본출원료】	20 면	29,000 원	
【가산출원료】	0 면	0 원	
【우선권주장료】	0 건	0 원	
【심사청구료】	9 항	397,000 원	
【합계】	426,000 원		
【감면사유】	중소기업		
【감면후 수수료】	213,000 원		
【첨부서류】	1. 요약서·명세서(도면)_1통		

【요약서】

【요약】

본 발명은 콩배아 원료를 이용하여 메주를 제조하는 개선된 방법과 그 방법에 의해 제조된 메주, 및 이를 이용하여 제조된 된장 및 간장에 관한 것으로, 콩배아 원료를 1 내지 30분 동안 침지시키고, 메주 발효 온도를 25 내지 35℃ 범위 내의 특정 온도로 일정하게 유지함으로써, 종래 메주 및 장류에 비해 효소 활성이 높고 이소플라본의 함량이 크게 증가하며 이취가 없는, 콩배아 메주, 된장 및 유리 아미노산이 풍부한 간장을 제조할 수 있다.

【명세서】

【발명의 명칭】

콩배아를 이용한 메주의 개선된 제조방법, 그 방법에 의해 제조된 메주 및 상기 메주를 이용하여 제조된 된장 및 간장{A MODIFIED METHOD FOR PREPARING KOJI, SAID KOJI, AND SOYBEAN PASTE OR SOYBEAN SAUCE MADE FROM THE KOJI}

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<1> 본 발명은 콩배아를 이용한 메주의 제조에 관한 것으로, 보다 구체적으로 이소플라본 함량이 높은 콩배아 메주를 제조하기 위한 개선된 방법 및 그 방법에 의해 제조된 메주 및 이를 이용하여 제조된 된장 및 간장에 관한 것이다.

<2> 장류는 우리 조상들이 오랜 옛날부터 애용하여온 전통 발효식품으로 국내뿐 아니라 일본, 중국 등지에서도 유사한 식품의 형태로 폭넓게 섭취되고 있다. 장류중의 하나인 된장의 원료는, 예를 들면 KS(Korean Standard) 규격에 따른 개량식 된장의 경우에는 식염 12%, 콩 25%, 보리 25%, 보리국자 37% 및 종수로 구성되며, 세균과 곰팡이가 분비하는 다양한 효소에 의해 구성성분들이 분해되는데, 특히 된장 성분의 25% 정도를 차지하는 단백질은 단백 분해효소에 의해 여러 가지 펩타이드나 아미노산으로 분해된다. 종래의 된장은 재래식 된장과 개량식 된장으로 구분된다. 재래식 된장은 간장을 뜨고 남은 메주와 찐보리 자체에 함유되어 있는 효소에 의하여 자연숙성으로 발효시켜 제조되는 것으로 숙성에 장시일

이 요구되며, 개량식 된장은 일반적으로 코지(koji, 麹)를 만든 다음, 여기에 증자시킨 콩과 소금물을 가하여 초피공정을 거쳐 분해된 것을 숙성(aging)시킴으로써 제조된다.

<3> 일반적으로 발효된 된장 중에는 글루탐산이나 류신(leucine) 등의 유리아미노산이 다량 함유되어 있고, 펩타이드를 구성하는 아미노산으로서 글루탐산, 프롤린, 아스파르트산의 비율이 높은 것으로 알려져 있다. 이와 같이 된장은 유리아미노산, 불포화지방산 등의 함량이 높아 영양이 풍부할 뿐만 아니라 항암, 항혈전, 항고혈압, 골다공증 예방 효능 등이 있는 것으로 알려져 왔다.

<4> 대한민국 특허출원 제1999-34795호, 제1999-32358호, 제1998-3515호, 제1998-39820호, 제1999-32366호, 제1999-2014호, 제1999-12150호 등에는 기능성 장류가 개시되어 있고, 대한민국 특허출원 제1969-1518호 및 제1986-874호에는 메주의 제조방법에 대해 기재하고 있으며, 대한민국 특허출원 제1974-1659호, 제1969-1537호, 제1985-7915호, 제1990-14368호, 제1996-38424호 등에는 간장의 제조에 대해 기술되어 있고, 특히 기능성 간장과 관련한 기술로는 대한민국 특허출원 제1989-10541호, 제1997-31790호, 제1998-41501호, 제1996-9176호, 제1999-35759호, 제1991-25316호, 제1994-24261호, 제1996-23783호, 제1997-20245호, 제1999-39953 등이 있다. 또한 된장의 제조에 대해 대한민국 특허공개 제1999-78976호, 제2000-24798호, 제1999-9389호, 제2000-41532호, 제2000-41531호, 제2000-26798호, 제2000-12710호, 제1999-79149호, 제2000-49510호, 특허공고 제1989-3997호, 제1992-2100호, 제1991-6926호, 대한민국 특허 제133,989호, 제136,712호에 개시되어 있다.

<5> 상기와 같은 기능성 장류, 된장 또는 간장을 제조하기 위한 종래 기술들은, 단순히 기능성이 입증된 성분이나 재료 등을 이용하여 장류에 기능성을 부여하는 방법이 대부분이었다.

<6> 이소플라본(isoflavone)은 콩과식물, 칩 등의 식물중에 존재하는 천연 화합물로서 12 종류의 이성체가 천연의 상태로 존재하며, 여성 호르몬의 일종인 에스트로젠과 화학적 구조가 유사하여 체내의 에스트로젠 수용체에 친화력을 가지고, 호르몬 농도나 표적 조직에 따라 에스트로젠의 작용제(agonist) 또는 길항제(antagonist)로 작용한다. 최근, 연구를 통해 에스트로젠이 갖는 항암 효과[Barnes, *J. Nutr.*, 125, 777s, (1995); Akiyama et al., *J. Biol. Chem.*, 262(2), 5592(1987); 및 Molteni et al., *J. Nutr.*, 125, 751s (1995)], 골다공증 예방 효과[Shino et al., *Life Sci.*, 42(11), 1123 (1988)], 만성질환 예방 효과[Fotsis et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 90, 2690(1993)], 항산화 효과[Naim et al., *J. Agric. Food Chem.*, 24(6), 1174(1976)], 알데히드 탈수소효소 억제 작용[Keung and Vallee, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 90, 1247(1993)], 전립선 암 예방 효과[Peterson and Barnes, *The Prostate*, 22, 335(1993)] 등이 밝혀지면서 이소플라본의 이용성이 확대되고 있다.

<7> 이소플라본 이성체들은 대부분 배당체 형태로서, 이 배당체는 위산에 의해 분해되지 않고 대장내 미생물로부터 분비되는 β -글루코시다아제(β -glucosidase)에 의해서만 분해되기 때문에 체내 흡수율이 낮은 것에 반해, 어글리콘 형태의 이소플라본은 체내에서 부가적인 변화 없이 위와 소장에서 직접 흡수되는 장점을 갖는다.

<8> 이소플라본은 특히 콩배아에 다량으로 존재하는 것으로 알려져 있으며, 특히 된장 또는 간장의 제조에 콩배아 원료를 이용하는 경우에는 종래의 콩 원료를 이용한 장류에 비해 다음과 같은 장점을 가진다: 첫째, 콩배아는 두유 제조나 콩기름 제조 공정에서 부산물로 생성되어 거의 폐기되던 것으로 이를 장류 원료로 재활용할 수 있으므로 매우 경제적이다. 둘째, 조성면에서 콩은 조단백질 42.6%, 조지방 21.4%, 가용성 무기질소물 26.2%, 조섬유 4.7% 및 회분 5.0%로 구성되며, 콩배아는 조단백질 43.4%, 조지방 11.5%, 가용성 무기질소물 38.1%, 조섬유 2.8% 및 회분 4.3%로 구성[정동효 외, 콩발효식품, 지성의 샘, 34-38(1994)]되므로, 콩배아는 콩의 대체 소재로서도 충분하다. 셋째, 콩배아는 이소플라본, 페놀산 등의 페놀 화합물, 피트산(phytic acid), 프로테아제 억제제, 리그난(lignan), 사포닌, 식이섬유, 대두 올리고당, 대두 단백질, 대두 펩티드, 레시틴, 각종 비타민 및 미네랄 등의 기능성 생리활성 물질들이 콩보다 월등하거나 상등하게 함유하여, 기능성 면에서도 콩보다 우수하다. 특히, 콩의 이소플라본 함량은 0.3 중량%인데 반해, 콩배아내 이소플라본 함량은 2.5 내지 3 중량%이다.

<9> 본 발명자들은 이소플라본 함량이 풍부한 콩배아를 원료로 하는 코지를 제조하고 이를 이용하여 제조된 장류를 개발함으로써, 대한민국 특허출원 제 2001-10233호(2001. 2. 28)로서 출원한 바 있으며, 코지 및 장류에 함유된 이소플라본의 함량을 증가시키기 위한 연구를 계속적으로 진행함에 따라, 콩배아를 이용한 코지의 개선된 제조방법을 개발하기에 이른 것이다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<10> 따라서, 본 발명의 목적은 콩배아 메주의 제조방법에 있어서, 공정을 단순화시킴으로써 효소의 활성이 향상되고 메주의 이취를 감소시킬 수 있는, 개선된 방법을 제공하기 위한 것이다.

<11> 본 발명의 다른 목적은 상기 개선된 방법을 이용하여 제조된 콩배아 메주를 제공하기 위한 것이다.

<12> 본 발명의 또다른 목적은 상기 콩배아 메주를 이용하여 제조된 된장 및 간장을 ~~제공하기 위한 것이다.~~

【발명의 구성 및 작용】

<13> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명에서는 콩배아를 이용한 메주의 제조방법에 있어서, 콩배아 원료를 1분 내지 30분 동안 침지시키고, 메주 숙성 온도를 25 내지 35℃의 범위내에서 특정 온도로 유지하는 것을 포함하는, 콩배아 메주의 개선된 제조방법 및 그 방법에 의해 제조된 콩배아 메주를 제공한다.

<14> 된장 또는 간장은 콩원료내 단백질이 프로테아제(protease)에 의해 아미노산으로 분해됨으로써, 그리고 전분질이 아밀라아제(amyase)에 의해 당으로 분해됨으로써 각각 구수한 맛과 단맛을 갖는다. 따라서 메주 제조에 사용되는 미생물은 단백질과 전분질을 분해할 수 있는 효소를 잘 생산할 수 있어야 하며, 숙성에 큰 어려움이 없어야 한다.

<15> 메주 제조에 사용될 수 있는 균은 곰팡이와 세균으로 구분되며, 상기 곰팡이로는 아스퍼질러스 아와모리(*Aspergillus awamori*), 아스퍼질러스 카와치(*Asp. kawachii*), 아스퍼질러스 니거(*A. niger*), 아스퍼질러스 오리자에(*A. oryzae*), 아스퍼질러스 시로우사미(*A. shirousamii*), 아스퍼질러스 소자에(*A. sojae*), 아스퍼질러스 타마리(*A. tamarii*), 리조푸스 텔레마(*Rhizopus delemar*), 리조푸스 올리고스포르스(*Rhizopus oligosporus*) 등이 있고, 상기 세균에는 바실러스 브레비스(*Bacillus brevis*), 바실러스 리첸니포르미스(*B. licheniformis*), 바실러스 나토(*B. natto*), 바실러스 폴리믹사(*B. polymixa*), 바실러스 푸밀리스(*B. pumilis*), 바실러스 서브틸리스(*B. subtilis*) 등이 있다.

<16> 본 발명에서는 프로테아제 및 아밀라아제 생산 능력이 우수한 것으로 알려진 황국균(*Aspergillus* sp.)을 메주 총 중량을 기준으로 0.01 내지 10 중량%의 함량으로 사용한다.

<17> 본 발명에 의한 메주의 제조방법의 바람직한 구체예는 다음과 같다: 콩배아를 선별·세척하여 1분 내지 30분, 바람직하게는 3분 내지 20분 동안 물에 침지시킨 후, 증자기에서 90 내지 140℃, 바람직하게는 110 내지 120℃에서 증자시킨다. 증자된 콩배아를 실온으로 식힌 후 황국균을 콩배아 중량에 대해 0.01 내지 10%, 바람직하게는 0.1 내지 5%의 양으로 접종하여 콩배아 메주를 제조한다.

<18> 상기 메주 제조공정에 있어서, 콩배아를 1시간 이상 침지시키는 경우에는 흡수된 수분이 과다하여 콩배아의 성상이 물러지기 쉽고, 증자 후에는 콩배아가

서로 뭉치게 되며, 겉종시에는 이러한 무른 물성으로 인해 통기성이 나빠져서 호기성인 ~~황국균의~~ 생장이 저조해진다.

<19> 본 발명에서 사용될 수 있는 황국균(*Aspergillus* sp.)은 지역이나 용도에 따라 다소 차이가 있을 수 있으나 장류의 제조에 통상적으로 사용되는 균은 모두 사용될 수 있다. 예를 들면, 아스퍼질러스 아와모리(*A. awamori*), 아스퍼질러스 카와치(*A. kawachii*), 아스퍼질러스 니거(*A. niger*), 아스퍼질러스 오리자에(*A. oryzae*), 아스퍼질러스 시로우사미(*A. shirousamii*), 아스퍼질러스 소자에(*A. sojae*), 아스퍼질러스 타마리(*A. tamarii*), 리조푸스 델레마(*Rhizopus delemar*), 리조푸스 올리고스포르스(*Rhizopus oligosporus*) 등이 있으며, 이 중에서 아스퍼질러스 오리자에가 바람직하다.

<20> 상기 황국균이 접종된 콩배아 메주를 활성화시키기 위하여 1차 제국 및 2차 제국을 연속적으로 수행한다. 이때 숙성온도는 25 내지 35℃를 유지하고, 숙성 습도는 40 내지 100%, 바람직하게는 80 내지 99%를 유지한다. 1차 제국은 12시간 내지 72시간 동안, 바람직하게는 24시간 내지 48시간 동안 수행하며, 2차 제국은 12시간 내지 72시간 동안, 바람직하게는 24시간 내지 48시간 동안 수행한다. 이렇게 제조된 콩배아 메주는 그대로 장류 제조에 사용되거나, 또는 건조시킨 후 사용될 수 있지만, 장기 보관 및 이취 제거를 위해 메주를 건조시키는 것이 바람직하다.

<21> 2차 제국이 종료된 콩배아 메주를 40 내지 90℃, 바람직하게는 55 내지 65℃에서 12시간 내지 72시간, 바람직하게는 24시간 내지 48시간 동안 건조시킴으로써, 건조되고 이취가 제거된 콩배아 메주를 수득할 수 있다.

<22> 본 발명은 또한 상기 콩배아 메주를 이용하여 제조된 된장 및 간장을 제공한다.

<23> 본 발명에서 콩배아 메주를 이용하여 된장 및 간장을 제조하는 방법은, 예를 들면 다음과 같다:

<24> 상기 건조 콩배아 메주에 염도가 10 내지 70%, 바람직하게는 15 내지 25%인 소금물을 건조 콩배아 메주 무게의 2 내지 10배, 바람직하게는 2 내지 4배 첨가하고, 상기 메주가 완전히 염수에 잠기도록 눌러서 10 내지 50일, 바람직하게는 25 내지 35일 동안 10 내지 50℃, 바람직하게는 15 내지 25℃에서 1차 숙성시킨다. 1차 숙성이 진행된 된장 및 간장을 서로 분리하여 10 내지 50일, 바람직하게는 25 내지 35일 동안 10 내지 50℃, 바람직하게는 15 내지 25℃에서 각각 2차 숙성시킨다. 1차 숙성이 끝난 간장은 그 자체로도 사용될 수 있지만 좀 더 깊은 맛을 위해 2차 숙성을 시키는 것이 바람직하다.

<25> 본 발명의 방법에 따라 제조된 된장은, 된장 1g에 대해 5 내지 25mg의 이소플라본을 함유하며, 이는 종래의 콩을 주원료로 하는 된장에 비해 8배 이상 높은 수치이다. 또한 상기 된장은 각종 비타민류, 플라보노이드(flavonoids), 사포닌(saponin), 폴리페놀류(polyphenol) 등을 함유하여 항산화 및 항암 효과를 가질 수 있다. 본 발명의 방법에 따라 제조된 간장도 콩을 이용한 종래의 양조간장과는 유리 아미노산의 조성이 다를 수 있다.

<26> 이하 본 발명을 하기 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 이들만으로 한정되는 것은 아니다.

<27> 실시예

<28> 실시예 1: 황국균을 이용한 콩배아 메주의 제조

<29> 콩배아 1kg을 정선하여 세척하고 물에 5분 동안 침지시킨 후, 침지된 콩배아 2.5kg을 118℃에서 60분간 증자시켰다. 증자된 콩배아를 방냉하여 충분히 식힌 다음, 여기에 황국균(*Aspergillus sp.*, 충무발효(주)) 10g을 접종하고 접종균이 콩배아에 골고루 잘 퍼지도록 혼합한 후 제국틀에 2~3cm 두께로 잘 펴서 담았다. 균이 접종된 콩배아가 담긴 제국틀을 제국실에 넣고, 온도 29℃, 상대습도 95%에서 1차 제국을 15시간 동안 실시하여 콩배아 전체에 황국균이 눈에 보일 정도로 배양하였다. 1차 제국된 콩배아를 제국틀에서 뒤바꾸기하고 온도 29℃, 상대습도 95%에서 24시간 동안 2차 제국을 실시하여 메주를 제조하였다. 생성된 콩배아 메주를 열풍건조기에 넣고, 65℃에서 24시간 동안 건조시켜 최종 건조 콩배아 메주를 수득하였다.

<30> 비교예 1: 황국균을 이용한 콩배아 메주의 제조

<31> 콩배아 1kg을 정선하여 세척한 후 물에 16시간 동안 침지시킨 후, 침지된 콩배아 2.5kg을 121℃에서 20분간 멸균시키고 114℃에서 100분간 증자시켰다. 증자된 콩배아를 37℃에서 방냉한 다음, 여기에 황국균(충무발효(주)) 10g을 접종하고 접종균이 골고루 퍼지도록 혼합하였다. 균이 접종된 콩배아를 상대습도 95%를 유지하면서 35℃에서 14시간, 33℃에서 9시간, 39℃에서 15시간 동안 배양한 후, 제국틀에서 콩배아를 뒤바꾸기하고, 이어서 39℃에서 9시간, 42℃에서 15

시간, 43℃에서 6시간 동안 배양하여 콩배아 메주를 제조하였다. 이때 겉종균이 발아되기 쉽고 빠른 활성화 및 부분 승온을 방지하기 위해 각 온도 단계마다 균 접종된 콩배아를 잘 혼합시켰다.

<32> 비교예 2: 고초균을 이용한 콩배아 메주의 제조

<33> 황국균 대신에 진탕 배양된 고초균(*Bacillus subtilis*; 한국유전자은행, KCTC 1028) 1.71ml (1.2×10^9 개 포자/ml)를 사용한 것을 제외하고는, 비교예 1과 동일한 방법에 의해 콩배아 메주를 제조하였다.

<34> 실시예 2: 된장 및 간장의 제조

<35> 상기 실시예 1에서 제조된 건조 콩배아 메주 1kg을 그물망에 넣고 3ℓ의 염수(염도 18%)에 담그고 상온에서 30일 동안 숙성(1차 숙성)시켜 콩배아 된장 및 간장을 수득하였다. 상기 1차 숙성된 콩배아 된장을 잘 섞어주면서 깨끗한 용기에 담아 공기의 출입이 없도록 하여 상온에서 30일간 2차 숙성시켜 콩배아 메주 된장을 제조하였고, 1차 숙성된 간장은 깨끗한 용기에 옮겨 담고 좀 더 깊은 맛을 내기 위해 30일 정도 2차 숙성시켜 콩배아 간장을 제조하였다.

<36> 시험예 1: 아밀라아제 활성 분석

<37> 상기 실시예 1 및 비교예 1·2에서 각각 제조된 메주의 아밀라아제 활성을 측정하여 표 1에 나타내었으며, 실시예 2에서 제조된 된장 및 간장의 아밀라아제 활성은 표 2에 나타내었다.

<38> 조효소액으로서, 메주와 된장은 시료 2g을 증류수 10ml에 넣고 혼합하여 추출한 후 원심분리(13,000rpm, 5분)하여 상층액을 사용하였으며, 간장은 원액을 원심분리(13,000rpm, 5분)하여 상층액을 사용하였다.

<39> 아밀라아제 활성 측정법은 다음과 같다: 0.02M 초산 완충용액(2ml, pH 5.4)에 0.5% 가용성 전분용액(5ml), 1% NaCl용액(1ml) 및 증류수(0.8ml)를 시험관에 넣고 55℃에서 5분간 예열시킨 후, 여기에 상기에서 제조된 효소액 0.2ml를 넣고 10분간 반응시킨 후 100℃ 끓는 물에 담가 반응을 정지시켰다. 여과지(Whatman No.1)를 사용하여 침전물을 제거한 후, 여액 1ml를 취하여 3ml의 DNS(dinitrosalicylic acid) 용액과 혼합하고 끓는 물에서 5분간 반응시켰다. 이어서 상온으로 냉각시키고 분광광도계로 550nm에서 흡광도를 측정하였다. 여기서 시료의 흡광도 값은 맥아당 표준곡선으로부터 맥아당 함량으로 환산하였으며, 효소 역가 단위는 시료 1g(ml)이 분당 1umol의 맥아당을 유리시키는 능력을 1 단위(unit)로 정의하였다.

<40> 【표 1】

경과시간	실시예 1 (unit/g)	경과시간 (hrs)	비교예 1 (unit/g)	비교예 2 (unit/g)
0	0	0	0	0
1차제국 후	11,300	14	268	191
		23	366	265
2차제국 후	13,950	38	372	251
		47	334	256
메주건조 후	14,475	62	310	197
		68	300	164

<41>

【표 2】

실시에 2		된 장 (unit/g)	간 장 (unit/ml)
1차 숙성	15일	5,238	2,442
	30일	4,875	2,708
2차 숙성	15일	4,841	2,254
	30일	4,563	2,221

<42> 상기 표 1에서 보듯이, 본 발명의 방법에 의해 제조된 콩배아 메주의 아밀라아제 역가는, 비교예 1 및 2에서 제조된 메주에 비해 각각 46배(황국균), 85배(고초균) 높은 역가를 나타낸다.

<43> 시험예 2: 프로테아제 활성 분석

<44> 상기 실시예 1 및 비교예 1·2에서 각각 제조된 메주의 프로테아제 활성을 측정하여 표 3에 나타내었으며, 실시예 2에서 제조된 된장 및 간장의 프로테아제 활성은 표 4에 나타내었다.

<45> 프로테아제 활성 측정법은 식품분석학(강국희 등, 식품분석학, 성균관대학교 출판부, 427(1998))에 개시된 방법을 이용하여 분광광도계로 660nm에서 측정하였으며, 효소역가 단위는 시료 1g(ml)이 분당 타이로신(tyrosine) 1 μ g을 유리시키는 능력을 1단위(unit)로 정의하였다.

<46>

【표 3】

경과시간	실시예 1 (unit/g)	경과시간 (hrs)	비교예 1 (unit/g)	비교예 2 (unit/g)
0	0	0	0	0
1가제국 후	309	14	190	258
		23	299	405
2가제국 후	1,266	38	551	558
		47	546	506
메주건조 후	1,578	62	541	479
		68	410	333

<47> 【표 4】

실시예 2		된 장 (unit/g)	간 장 (unit/ml)
1차 숙성	15일	528	345
	30일	502	340
2차 숙성	15일	482	336
	30일	501	317

<48> 상기 표 3에서 볼 수 있듯이, 본 발명에 의한 실시예 1에서 제조된 메주의 프로테아제의 역가는 비교예 1 및 비교예 2에서 제조된 메주에 비해 각각 3배(황국균) 및 3.8배(고초균) 높다.

<49> 시험예 3: β -글루코시다아제 활성

<50> 상기 실시예 1·2 및 비교예 1·2에서 각각 제조된 메주, 된장 및 간장의 β -글루코시다아제 활성을 측정하여 표 5에 나타내었다.

<51> β -글루코시다아제의 역가는 기질로서 p -니트로페닐- β -D-글루코피라노사이드(PNPG)를 사용하고, 시료 2g을 증류수 10ml에 넣고 혼합하여 추출한 후 원심

분리(13,000rpm, 5분)하여 상층액을 조효소액으로 사용하였다. 0.5ml의 PNP_G 용액(2mM, 0.1M 아세트이트 완충용액, pH 4.5)에 상기 조효소액 0.1ml을 넣고 30℃ 항온수조에서 10분간 반응시킨 후, 0.9ml의 1M Na₂CO₃를 첨가하여 반응을 정지시키고 분광광도계(덕산 메카시스(주))를 이용하여 405nm에 흡광도를 측정하였다. 1단위(unit)는 상기조건하에서 1uM의 니트로페놀(nitrophenol)을 형성하는 효소의 양으로 정의하였다(김무성 외, 감귤류 변패의 원인균인 가 생성하는 식물세포벽 분해 효소의 작용양상, , 25(2), 115-120(1997)).

<52> 【표 5】

경과시간	실시에 1 (unit/g)	숙성기간		실시에 2	
				된 장 (unit/g)	간 장 (unit/ml)
0	0	1차 숙성	15일	321	151
1차제국 후	55		30일	359	163
2차제국 후	1.603	2차 숙성	15일	108	92
메주건조 후	1.232		30일	110	83

<53> 표 5에서 보는 바와 같이, β -글루코시다아제는 메주 제조과정중 2차 제국 후에 가장 높은 활성을 나타내며, 메주 건조 후에도 활성이 우수하게 남아 있으며, 된장 제조과정 중에도 계속 활성이 남아있음을 알 수 있다.

<54> 시험예 4: 이소플라본 함량 및 어글리콘 함량 변화 측정

<55> 상기 실시에 1 및 2에서 제조된 메주, 된장 및 간장내 이소플라본 및 어글리콘의 함량을 측정하기 방법은 다음과 같으며, 그 결과를 표 6에 나타내었다:
분석용 시료를 건조시켜 분말로 만든 후, 시료 분말 50mg을 70% 에탄올(3ml)에

녹인 후 60℃ 항온수조에서 30분간 추출하여 원심분리기(Micro-12 ; 한일과학산업주식회사)를 이용하여 상정액을 취해 알코올에 10배 희석시킨 후 여과(0.45 μ m)하여 여액(20 μ l)을 고압액체크로마토그래피에 주입하여 260 nm에서 측정하였다(Shigemitsu K. et al., *J. Biol. Chem.*, 55(9), 2227-2233(1991)). 이때, 이동상으로는 15% 및 35% 아세토니트릴 용액으로 농도 그라디언트(gradient)를 이용하였으며, 장비조건은 프로그램: Mode 2(Linear Gradient), 칼럼: YMC-Pack ODS-AM (AM-303) 250 \times 4.6 mm I.D. /S-5 μ m, 120A, 디텍터: 260 nm, 유량: 1.0 ml/분, 작동시간: 50분이었다.

<56> 【표 6】

				총 이소플라본 함량	어글리콘 이소플라본 함량
실 시 예 1	메 주 (mg/g)	콩배아		13.81	0
		침지 후		14.31	1.98
		증가 후		12.14	1.93
		1차 제국 전		13.02	1.92
		1차 제국 후		15.33	10.51
		2차 제국 후		15.66	10.39
		메주 건조 후		15.82	10.89
실 시 예 2	된 장 (mg/g)	1차 숙성	15일	16.04	13.0
			30일	15.15	11.96
		2차 숙성	15일	12.98	12.98
			30일	14.3	14.3
	간 장 (ug/ml)	1차 숙성	15일	135	19.92
			30일	174	24.29

<57> 상기 표 6에서 보듯이, 본 발명에 의한 콩배아 메주를 이용한 된장 제조과정중 이소플라본의 함량은 크게 변화가 없다. 즉 숙성이 진행되어도 총 이소플라본 함량은 줄어들지 않았으며, 공정이 진행되면서 어글리콘 이소플라본 함량이 증가되어 된장 2차 숙성이 15일이 경과되면서 100% 어글리콘 이소플라본으로 전

환됨을 알 수 있다(실시예 2). 반면에 간장은 메주에 있던 이소플라본중 상대적으로 물에 대한 용해도가 높은 배당체 이소플라본이 용출되어 간장으로 용해됨으로써 이소플라본의 함량은 높지만, 시간이 경과해도 어글리콘 이소플라본으로의 전환이 거의 이루어지지 않으며, 이는 β -글루코시다아제의 작용이 포도당을 비롯한 당성분에 의해 저해를 받고 있는 결과로 추측된다.

<58> 시험예 5: 유리아미노산 조성 분석

<59> 상기 실시예 2에서 제조된 간장 및 시판중인 양조간장(콩 100%로 제조, (유)대한식품)내 유리아미노산의 조성을 PICO-태그(tag) 방법을 이용하여 분석하였으며, 그 결과를 표 7에 나타내었다.

<60> 【표 7】

유리아미노산	조성 (%)	
	실시예 2 (콩배아 간장)	대조군 (콩 간장)
Cys	1.78	1.11
Asp	7.54	1.57
Glu	14.42	19.22
Ser	7.18	6.75
Gly	4.89	5.25
His	2.65	0.68
Arg	3.45	0.29
Thr	5.72	5.09
Ala	8.58	15.54
Pro	6.22	5.53
Tyr	2.94	0.36
Var	7.27	7.31
Met	2.38	1.66
Cys2	0.60	0.10
Ile	5.43	6.37
Leu	8.10	9.60
Phe	3.32	4.64
Trp	0.94	1.30
Lys	6.59	7.63

<61> 상기 표 7에서 보듯이, 콩배아로 제조한 양조간장은 콩으로 제조한 양조간장과 비교하여 유리아미노산의 조성이 다름을 나타낸다. 본 발명에 의한 콩배아간장내 유리아미노산 중에서, 아르기닌(11.9배), 타이로신(8.2배), 아스파라긴산(4.8배) 및 히스티딘(4.0배)의 함량이 대조군 간장에 비해 월등히 높다. 즉, 종양과 암세포의 성장, 전이 등을 지연시키고 간 질환에 우수한 효과를 나타내는 것으로 알려진 아르기닌, 체내 지방 분해, 식욕 억제 등의 효과를 갖는 타이로신, 간 기능이 우수한 아스파라긴산, 알레르기, 류머치스 관절염, 빈혈 치료 등에 필수적이며 적혈구, 백혈구 생성하는 히스티딘 등을 종래의 간장에 비해 풍부히 함유함을 알 수 있다.

【발명의 효과】

<62> 본 발명의 방법에 따라, 원료 콩배아의 침지 시간을 30분 이내로 단축하고, 메주 발효 온도를 특정 온도로 유지함으로써, 종래 메주 및 장류에 비해, 효소(아밀라아제, 프로테아제 및 β -글루코시다아제) 활성이 우수하고 이소플라본의 함량이 크게 증가하며 이취가 없는 콩배아 메주와 된장을 제조할 수 있으며, 이를 이용하여 체내에 유용한 유리 아미노산이 풍부한 간장을 제조할 수 있다.

【특허청구범위】**【청구항 1】**

콩배아를 이용한 메주의 제조방법에 있어서, 콩배아를 1 내지 30분 동안 침지시키고, 침지된 콩배아를 증자시킨 후 황국균을 접종하고, 25 내지 35℃ 범위의 특정온도에서 1차 숙성 및 2차 숙성시키는 것을 포함하는, 콩배아 메주의 제조방법.

【청구항 2】

제1항에 있어서,

증자가 90 내지 140℃의 온도범위에서 수행되는 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 3】

제1항에 있어서,

황국균을 콩배아 중량에 대해 0.01 내지 10%의 양으로 접종하는 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 4】

제3항에 있어서,

황국균이 아스퍼질러스 아와모리(*A. awamori*), 아스퍼질러스 카와치(*A. kawachii*), 아스퍼질러스 니거(*A. niger*), 아스퍼질러스 오리자에(*A. oryzae*), 아스퍼질러스 시로우사미(*A. shirousamii*), 아스퍼질러스 소자에(*A. sojae*), 아스퍼질러스 타마리(*A. tamarii*), 리조푸스 텔레마(*Rhizopus delemar*) 및 리조푸스 올리고

스포러스(*Rhizopus oligosporus*)로 이루어진 균으로부터 선택된 것임을 특징으로 하는 방법.

【청구항 5】

제1항에 있어서,

숙성 습도가 40 내지 100%임을 특징으로 하는 방법.

【청구항 6】

제1항에 있어서,

1차 숙성 및 2차 숙성이 각각 12시간 내지 72시간 동안 수행됨을 특징으로 하는 방법.

【청구항 7】

제1항 내지 제6항중 어느 한 항의 방법에 의해 제조된 콩배아 메주.

【청구항 8】

제7항의 메주를 이용하여 제조된 된장.

【청구항 9】

제7항의 메주를 이용하여 제조된 간장.